

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Hämatologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM München

(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Das Verhalten von Knochenmark unter Kulturbedingungen

bei nephrogener Anämie

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Günter Wilke

aus Quedlinburg

1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553616_0008

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Hämatologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM München

(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Das Verhalten von Knochenmark unter Kulturbedingungen

bei nephrogener Anämie

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Günter Wilke

aus Quedlinburg

Referent: Prof. Dr. I. Boll

Korreferent: Prof. Dr. W. Pribilla



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 1. 7. 1972

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	5
II. MATERIAL UND METHODE	6
III. ERGEBNISSE	8
IV. SIGNIFIKANZBERECHNUNG	17
V. DISKUSSION	20
VI. ZUSAMMENFASSUNG	25
VII. LITERATURVERZEICHNIS	27

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Die übliche Knochenmarkdiagnostik begnügt sich durch Ausstrich und Beurteilung des direkt vom Patienten gewonnenen Zellmaterials gleichsam mit einer "Momentaufnahme" des blutbildenden Organs. In der vorliegenden Arbeit werden darüberhinaus 14 Knochenmarkpunktate von 10 Patienten mit nephrogener Anämie über drei Tage gezüchtet und ausgestrichen, um zusätzlich neue Parameter zu erhalten.

Im Vorliegenden sollen die Besonderheiten vor allem der Erythrozytenbildung bei nephrogener Anämie gegenüber der normalen Erythropoese und Anämien anderer Genese beschrieben werden. Über diese liegen bereits Arbeiten mit Kulturversuchen vor.

Für die Entstehung der nephrogenen Anämie ist nach heutigem Wissen Erythropoitinmangel die Hauptursache. Dieser Mangel entsteht infolge Nierenschädigung durch verminderte Erythropoitin-Ausscheidung von den juxtaglomerulären Nierenzellen (3, 9). Außerdem wiesen FISHER et al. (1968) und ESSERS et al. (1970) im Serum von Nierenkranken Erythropoitin-Inhibitoren nach (4, 6). Deshalb gilt es, den Einfluß des Erythropoitinmangels in vivo und die veränderten Bedingungen in vitro festzustellen.

Wo das Erythropoitin in die Erythropoese eingreift, ist noch nicht sicher angegeben worden. Deshalb soll diese Frage unter Berücksichtigung der eigenen Ergebnisse diskutiert werden.

Frühere Untersucher machten in erster Linie die Azotämie für die nephrogene Anämie verantwortlich, daneben Eisenmangel bei chronischem Infekt, vermehrte Hämolyse und Blutverlust durch die ableitenden Harnwege (8). Diese Faktoren müssen in der Diskussion ebenfalls berücksichtigt werden.

Unter Verwendung eigener und fremder Ergebnisse soll schließlich die Pathogenese der nephrogenen Anämie erarbeitet werden.

II. MATERIAL UND METHODE

Das Knochenmark wird mit einer Kanüle unter starker Aspiration meist dem Sternum, sonst dem Beckenkamm entnommen. Von dem erhaltenen Material wird ein Teil sofort ausgestrichen und nach PAPPENHEIM gefärbt. Dieser Ausstrich wird als "Original" bezeichnet, und seine Werte werden in den graphischen Darstellungen bei der Stunde Null eingetragen. Der Rest des entnommenen Materials wird als Koagulumkultur auf einem Koagulumtropfen aus fünf Tropfen Nativplasma vom selben Patienten, je vier Tropfen HANK's Lösung und einem Tropfen Corrhormon^R angelegt und bei 37°C kultiviert (2). Von den Kulturen werden nun nach 24, 48 und 72 h Ausstriche angefertigt und ebenfalls nach PAPPENHEIM gefärbt.

Zur Differenzierung der Zellen werden vorwiegend die Randpartien der Ausstriche benutzt, wo sie meist einzeln ausgebreitet liegen und deshalb gut zu erkennen sind. Die Zellen wandern in den Kulturen teilweise aus den Markbröckchen in die flüssige Phase aus, die beim Ausstreichen gerade in die Randpartien gelangt.

Bei den erythropoetischen Vorstufen unterscheiden wir folgende Zellen: Proerythroblasten (PE), basophile (bE), polychromatische (pE), oxyphile (oE) und reife (rE) Erythroblasten. Ihre Differenzierung erfolgt nach den von BOLL und MERSCH (2) angegebenen Kriterien, desgleichen die Phasen der Karyokinesen. Hier werden Prophase, frühe und späte Metaphase, Anaphase, Telophase und Rekonstruktionsphase unterschieden. Die Vorstufen der Granulopoese werden nach BOLL (1) diagnostiziert. Es sind folgende Reifungsstufen zu unterscheiden: Myeloblasten (Mbl), Promyelozyten (Pmy), neutrophile (nMy), eosinophile (eMy), basophile (bMy) Myelozyten, Monoblasten (Mob), Metamyelozyten (Mmz), neutrophile stabkernige Granulozyten (Stk), neutrophile (nSg), eosinophile (eSg) und basophile (bSg) segmentkernige Granulozyten und Monozyten (Moz), außerhalb der Granulopoese Lymphoblasten und -zyten, große und kleine Retikulumzellen, Megakaryoblasten und -zyten und Plasmoblasten und Plasmazellen.

Je Patient werden beim Original möglichst 2000, bei den Kontrollen nach 24, 48 und 72 h Kulturzeit je 1000 Zellen diagnostiziert.

Bei der Differentialverteilung der Erythroblasten und granulopoetischen Reifungsstufen beziehen sich die Prozentzahlen jeweils auf 100 rote bzw. weiße Knochenmarkzellen. Die großen und kleinen Retikulumzellen werden dagegen pro 1000 Knochenmarkzellen angegeben.

Den Mitose-Index (MI) erhält man durch Division der Anzahl der Mitosen durch die Anzahl der entsprechenden teilungsfähigen Zellen. Zu diesen zählen nicht die reifen Erythroblasten (rE), die stabkernigen (Stk) und segmentkernigen (nSg, eSg, bSg) Granulozyten und die Monozyten (Moz).

Zur Berechnung des roten Gesamt-MI werden die Erythroblasten-Mitosen von den 14 Fällen summiert und durch die Summe aller teilungsfähigen Erythroblasten dividiert.

Der Mitose-Index der einzelnen Erythroblasten-Reifungsklassen ist das Verhältnis von Mitosen einer Reifungsklasse zur Zellzahl derselben Reifungsklasse. Dieses Verhältnis kennzeichnet die Regenerationsfähigkeit der einzelnen Reifungsstufe. Wie beim Gesamt-MI werden zur Berechnung die entsprechenden Summen von den 14 Fällen verwendet.

Der GE-Index ist das Verhältnis von Granulopoese zu Erythropoese und wird berechnet, indem die Gesamtzellzahl der Granulopoese durch die Gesamtzellzahl der Erythropoese dividiert wird. Der Gesamt-GE-Index ist das arithmetische Mittel der 14 Einzelwerte. Obwohl der GE-Index nur ein Verhältnis ausdrückt, kann er zusammen mit anderen Befunden unter Umständen eine Hypo- bzw. Hyperplasie der Erythropoese oder Granulopoese anzeigen.

Die Reifungskurven werden angefertigt, indem die Prozentzahlen der weißen bzw. roten Knochenmarkzellen bei den entsprechenden Kulturzeiten abgetragen werden. In die rote Reifungskurve sind die Normalwerte gestrichelt eingetragen. Wegen besserer Übersichtlichkeit ist die Reifungskurve der normalen Granulopoese getrennt dargestellt.

III. E R G E B N I S S E

Im Folgenden sind von 10 Patienten mit nephrogener Anämie hauptsächlich Werte der Erythropoese dargestellt. Werte von der Granulopoese sind nur soweit aufgeführt, als sie zur Kennzeichnung der Erythropoese benötigt werden. Liegen Vergleichszahlen von anderen Anämieformen und von der normalen Erythropoese vor, sind diese bei Tabellen unter den eigenen Werten, sonst in Klammern neben den eigenen Zahlen aufgeführt. Da von vier Patienten je zwei Knochenmarkpunktate gewonnen wurden, ließen sich insgesamt 14 Einzelergebnisse auswerten.

In Tabelle 1 sind die klinischen Diagnosen der 10 Patienten und in Tabelle 2 einige die Anämie kennzeichnende Laborwerte zusammengestellt. Die Angaben der Tabellen 1 und 2 wurden den Krankenblättern entnommen.

Patient	Alter	klinische Diagnose
1. D.	62 Jahre	chronische Pyelonephritis
2. U.	57 Jahre	chronische Glomerulonephritis
3. H.	68 Jahre	chronisch-rezidivierende Pyelonephritis
4. M.	63 Jahre	chronische Glomerulonephritis
5. K.	73 Jahre	chronische Glomerulonephritis
6. W.	62 Jahre	chronische Pyelonephritis
7. S.	57 Jahre	chronische Nephritis
8. S.	71 Jahre	Zystopyelonephritis
9. H.	68 Jahre	chronische Glomerulonephritis
10. R.	45 Jahre	chronische Pyelonephritis

Tab. 1. Alter und klinische Diagnosen von 10 Patienten mit nephrogener Anämie.

	Rest-N (mg%)	Harnstoff (mg%)	Hämoglobin (mg%)	Erythrozyten ($10^6/\text{mm}^3$)	Hb/E (pg)	Leukozyten ($10^3/\text{mm}^3$)
1.	--	98	9,3	3,22	29	8,0
2.	96	--	6,6	2,35	28	8,7
3.	--	60	9,5	2,81	34	6,4
4.	74	100	10,8	3,22	34	6,3
5.	--	70	11,4	3,77	30	8,2
6.	67	50	5,2	1,72	30	7,6
7.	203	120	6,2	1,92	32	7,4
8.	--	80	8,6	2,57	34	8,4
9.	--	50	8,3	2,72	30	6,7
10.	114	156	11,8	3,35	35	8,0
	110	87	8,8	2,77	32	7,6

Tab. 2. Einige Laborwerte von 10 Patienten mit nephrogener Anämie (Werte einer Reihe z.T. an verschiedenen Tagen bestimmt).

Die 14 Einzelwerte der MI für die Erythropoese sind Tabelle 3, für die Granulopoese Tabelle 4 zu entnehmen. Tabelle 5 zeigt die GE-Indizes der einzelnen Fälle mit nephrogener Anämie. Zur Berechnung des roten Gesamt-MI aller Fälle mit nephrogener Anämie sind in Tabelle 6 (S. 11) die Gesamtzahlen der bei den einzelnen Ausstrichen gezählten teilungsfähigen Erythroblasten (tfg. Ebl.) mit den dazugehörigen Mitosen (Mit.) dargestellt.

Gemittelt von 14 Fällen mit nephrogener Anämie ergaben sich für die großen und kleinen Retikulumzellen folgende Werte (in Klammern Normalwerte nach SALCHOW (13)):

Große Retikulumzellen (pro 1000 Knochenmarkzellen)			
Original	24 h	48 h	72 h
40 (10)	12 (10)	8 (10)	18 (10)
Kleine Retikulumzellen (Normalwerte einschließlich Lymphozyten) (pro 1000 Knochenmarkzellen)			
25 (10)	5 (16)	3 (21)	8 (21)

Original 24 h 48 h 72 h
(p r o 1 0 0 0)

0,0	3,8	0,0	0,0
5,1	0,0	5,4	5,3
4,2	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0
11,2	21,8	9,0	0,0
31,4	12,7	0,0	0,0
29,6	21,7	10,0	0,0
15,6	0,0	0,0	0,0
76,2	21,4	-(x	0,0
22,0	23,0	-(x	14,3
10,1	18,0	16,6	15,9
16,1	6,6	26,7	6,9
7,6	0,0	0,0	0,0
6,9	9,7	13,9	0,0
16,8	9,9	6,8	3,0

Tab. 3. Das Verhalten der roten MI von 14 Fällen mit nephrogener Anämie in vivo und in vitro. (x keine Parameter vorhanden

Original 24 h 48 h 72 h

1,7	0,3	1,8	1,0
2,8	1,2	3,4	12,6 ^(xx)
5,1	7,6	8,5	4,9
3,1	0,9	1,9	2,0
2,7	2,6	3,6	2,3
4,6	0,3	1,7	3,7
2,4	1,9	3,5	3,2
2,9	1,4	1,3	3,8
1,1	1,5	-(x	2,4
5,8	1,4	-(x	1,9

Fortsetzung nebenstehend

Original 24 h 48 h 72 h
(p r o 1 0 0 0)

9,3	18,7	16,2	7,8
1,7	27,8	6,8	13,7
6,2	10,0	8,9	0,0
12,7	4,9	5,1	12,7
21,4	21,3	2,8	8,8
17,2	5,5	10,8	5,1
14,9	19,1	14,0	4,2
8,3	13,3	7,3	0,0
15,6	14,9	-(x	17,9
10,5	30,8	-(x	14,1
8,7	14,2	0,0	5,1
3,5	11,6	16,7	8,4
8,3	38,0	20,4	15,9
24,6	21,2	0,0	12,6
11,6	18,0	9,1	9,0

Tab. 4. Das Verhalten der weißen MI von 14 Fällen mit nephrogener Anämie in vivo und in vitro.

Original 24 h 48 h 72 h

1,8	0,8	1,5	1,1
4,9	0,9	2,5	1,1
0,9	0,7	0,4	0,8
1,5	1,2	1,5	2,1
3,0	1,6	2,6	2,3

Tab. 5. Die GE-Indizes im Original ausstrich und in den Kulturen von 14 Fällen mit nephrogener Anämie. (xx für den Mittelwert nicht berücksichtigt

Original			24 h			48 h			72 h		
tfg.	Ebl.	Mit.	tfg.	Ebl.	Mit.	tfg.	Ebl.	Mit.	tfg.	Ebl.	Mit.
254	8		525	8		120	0		30	0	
294	0		264	1		58	0		28	0	
228	5		218	5		-(x)	-(x)		70	1	
118	9		140	3		-(x)	-(x)		30	0	
192	3		184	4		18	0		8	0	
338	10		45	0		91	1		86	0	
261	2		412	0		172	0		127	0	
195	1		137	0		187	1		193	1	
176	0		215	0		219	0		143	0	
176	2		92	2		112	1		10	0	
289	2		311	3		72	1		180	0	
312	8		231	5		151	0		47	0	
593	6		390	7		121	1		126	2	
238	1		70	0		13	0		10	0	
Summe	3664	57	3234	38		1334	5		1088	4	

Tab. 6. Einzelwerte der teilungsfähigen Erythroblasten (tfg. Ebl) (alle Erythroblasten außer den reifen Erythroblasten) mit den entsprechenden Mitosen (Mit.) von 14 Fällen mit nephrogener Anämie. (x) keine verwertbaren Parameter

Aus Tabelle 6 ergeben sich folgende rote Gesamt-MI:

(pro 1000 Erythroblasten)

Original			24 h			48 h			72 h		
15,5	(14,7)		11,8	(6,8)		3,7	(4,6)		3,7	(2,2)	
(In Klammern Normalwerte von BOLL und MERSCH (2)).											

Die Differentialverteilung der Erythroblasten geht aus Tabelle 7 hervor. Zum Vergleich sind hier auch die Werte der normalen Erythropoese und der anderen Anämieformen (außer der perniziösen Anämie) nach BOLL und MERSCH (2) angegeben. Die Differentialverteilungen der nephrogenen Anämie und der normalen Erythropoese (gestrichelt eingetragen) sind als "rote" Reifungskurve in Abbildung 1 (S. 13) graphisch dargestellt.

Die Verteilung der granulopoetischen Zellen ist aus Tabelle 8 (mit graphischer Darstellung in Abbildung 2) ersichtlich.

	Zahl der Fälle	Kultur- stunden	PE	bE	pE (%)	oE	rE
Nephrogene	14	0	8	11	66	4	11
Anämie		24	3	5	31	16	45
		48	1	2	18	19	60
		72	1	2	17	13	67
Normale	19	0	5	15	65	3	12
Erythropoese		24	1	11	52	8	28
		48	1	6	45	6	42
		72	0	5	56	3	36
Eisenmangel-	12	0	11	17	45	13	14
Anämie		24	3	10	22	18	47
		48	2	5	13	28	52
		72	1	3	21	29	46
Hämolytische	7	0	13	24	43	13	7
Anämie		24	3	12	22	20	43
		48	1	6	20	25	48
		72	2	7	22	28	41
Sideroachrestische	8	0	16	25	30	13	16
Anämie		24	10	21	22	16	31
		48	2	7	13	16	62
		72	0	0	1	11	88

Tab. 7. Prozentuale Anteile der einzelnen Reifungsklassen im Originalausstrich und nach 24-72 h in vitro (Graphische Darstellung für die nephrogene Anämie und normale Erythropoese Abb. 1 S. 13) PE Proerythroblasten, bE basophile Erythroblasten, pE polychromatische Erythroblasten, oE oxyphile Erythroblasten rE reife Erythroblasten.

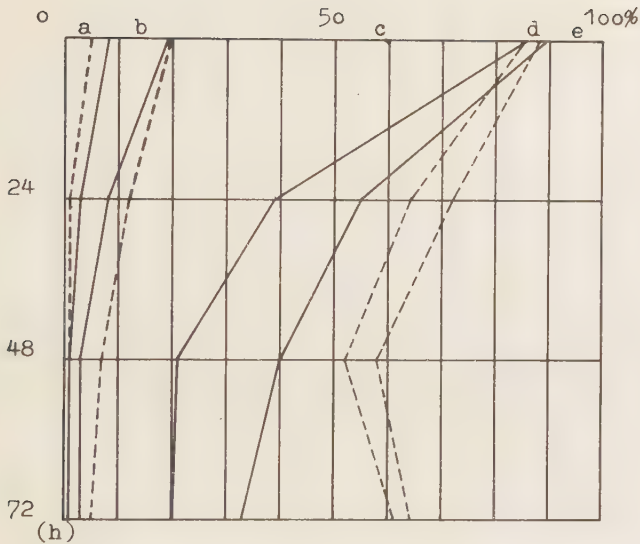


Abb. 1 Differentialverteilung der Erythroblasten gemittelt von 14 Fällen mit nephrogener Anämie in vivo (o h) und in vitro (24-72 h). Die Werte der normalen Erythropoese sind gestrichelt aufgetragen.

a Proerythroblasten, b basophile Erythroblasten, c polychromatische Erythroblasten, d oxyphile Erythroblasten, e reife Erythroblasten.

Auf der Abszisse sind die Reifungsstufen additiv aufgetragen, auf der Ordinate die Zeit in Stunden.

		Mbl	Pmy	nMy	eMy	bMy	Mob	Mmz	Stk	nSg	eSg	bSg	Moz
	(h)	(%)											
Nephro-	o	1	13	17	3	o	o	13	15	31	2	o	5
gene	24	1	26	25	6	o	o	9	7	21	3	o	2
Anämie	48	1	19	24	4	o	o	11	8	29	3	o	1
	72	o	12	21	4	o	o	13	7	38	4	o	1
Normale	o	4	14	21	2	o	o	18	19	2o	o	o	2
Granulo-	24	2	19	31	4	o	o	13	11	17	o	o	3
poese	48	2	2o	29	4	o	o	13	11	18	o	o	3
(BOLL)	72	2	13	22	3	o	o	18	15	23	o	o	4

Tab. 8. Prozentuale Anteile der einzelnen Reifungsklassen an der Granulopoese im Original (o h) und in den Kulturen (24-72 h) (Mittelwerte von 14 Fällen mit nephrogener Anämie und Normalwerte nach BOLL (1)). Abkürzungen wie S. 6 unten

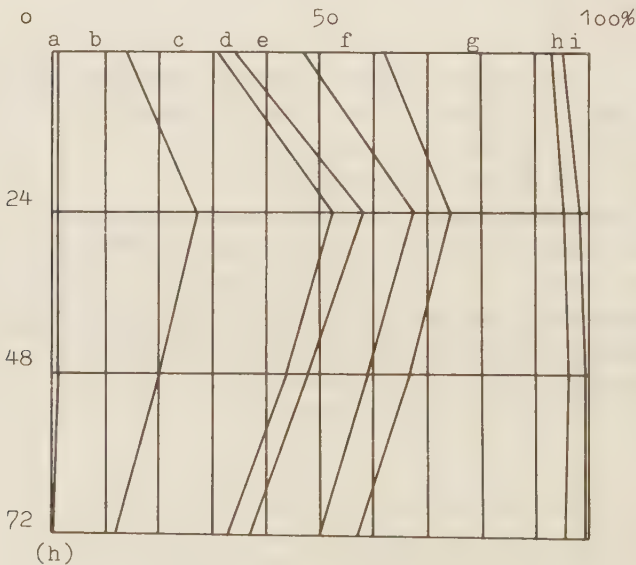


Abb. 2a. Reifungskurve der Granulopoese bei nephrogener Anämie in vivo (o h) und in vitro nach 24-72 h.

Abkürzungen und Bezeichnungen wie in Abb. 2b

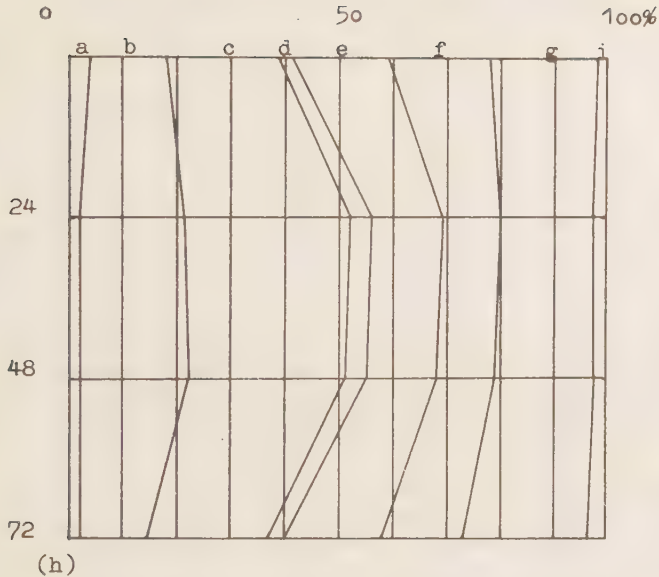


Abb. 2b Reifungskurve der normalen Granulopoese in vivo und in vitro nach 24-72 h Kulturzeit (1) (wegen besserer Übersichtlichkeit gesondert dargestellt). a Myeloblasten, b Promyelozyten, c neutrophile, d eosinophile Myelozyten, e Metamyelozyten, f Stabkernige, g neutrophile, h eosinophile Granulozyten, i Monozyten.

Die Mitose-Indizes der einzelnen Erythroblasten-Reifungsstufen und die Gesamt-MI der eigenen Fälle, der normalen Erythropoese und der anderen Anämieformen (2) sind in Tabelle 9 zusammengefaßt. Da die Erythropoese bei der nephrogenen Anämie ausnahmslos normoblastisch ist, wird insgesamt auf einen Vergleich mit der perniziösen Anämie verzichtet.

	Kultur- stunden	Gesamt-MI (pro 1000 teilungsfähiger Zellen)	PE	bE	pE	oE
Nephrogene	0	15,5	20,0	25,6	5,3	0
Anämie	24	11,8	25,8	28,5	17,5	11,0
	48	3,7	31,7	13,0	15,5	7,0
	72	3,7	35,6	12,4	8,7	0
Normale	0	14,7	38,3	51,9	8,4	0
Erythropoese	24	6,8	31,7	21,3	3,3	5,2
	48	4,6	22,7	8,6	3,0	10,9
	72	2,2	0	19,6	0,5	8,5
Eisenmangel-	0	21,6	17,5	36,4	19,6	10,1
Anämie	24	24,2	19,7	24,0	28,2	16,1
	48	21,9	78,6	86,7	26,0	4,9
	72	10,1	32,0	16,7	21,8	0
Hämolytische	0	30,9	57,6	68,0	10,5	4,4
Anämie	24	17,4	64,0	24,8	13,5	10,2
	48	16,0	58,8	35,2	20,6	4,3
	72	1,6	0	0	4,2	0
Sideroachre-	0	28,5	38,4	51,0	16,0	2,6
stische	24	23,5	39,2	31,1	22,0	6,1
Anämie	48	15,3	62,5	14,1	19,1	3,1
	72	0	0	0	0	0

Tab. 9. Mitose-Indizes der einzelnen Reifungsklassen in vivo und in vitro nach 24-72 h (Vergleichswerte nach BOLL und MERSCH). Abkürzungen wie in Tabelle 7 S. 12.

In Tabelle 10 (S. 17) werden die GE-Indizes bei nephrogener Anämie (s.S. 10 Tab. 5) denen der normalen Erythropoese und der anderen Anämieformen gegenübergestellt.

	K u l t u r s t u n d e n			
	o	24	48	72
Nephrogene Anämie	3,0	1,6	2,6	2,3
Normale Erythropoese	3,4	2,4	2,5	3,6
Eisenmangel-Anämie	1,8	2,4	2,5	6,5
Hämolytische Anämie	1,8	0,9	2,0	1,1
Sideroachrestische Anämie	2,8	2,9	3,0	0,7

Tab. 10. GE-Indizes der Originalausstriche (o h) und Kulturen nach 24-72 h (Vergleichswerte nach BOLL und MERSCH (2)).

IV. S I G N I F I K A N Z B E R E C H N U N G

Die Abweichungen der Einzelwerte bei unseren Patienten werden auf folgende Ursachen zurückgeführt:

1. Methodische Fehler
 - a. Fehler beim Ansetzen der Kulturen usw.
 - b. Wählen einer ungünstigen Stelle im Ausstrich
2. Persönlicher Zählfehler
 - a. Falsche Zuordnung der Zellen
 - b. Fehler beim Zählen der Gesamtzellzahl usw.
3. Inhomogenität des Krankengutes (in bezug auf Alter, Schweregrad der Nierenschädigung, Begleiterkrankungen usw.)

Schon bei relativ normalem Krankengut als Normalfälle schwanken die Ergebnisse von Knochenmarkuntersuchungen z.T. erheblich. Die unter 3 aufgeführten Faktoren führen bei unseren Patienten zu noch größeren Abweichungen der Einzelwerte untereinander. Deshalb dürften methodische Fehler und persönliche Zählfehler demgegenüber weniger gewichtig sein.

Weil die 19 Einzelwerte der normalen Erythropoese (BOLL) nur von der Differentialverteilung der Erythroblasten vorlagen, wird im Folgenden nur die Signifikanzberechnung für die "rote" Reifungskurve von 14 Fällen mit nephrogener Anämie durchgeführt.

Die Wahrscheinlichkeit P ist ein Maß für die Signifikanz, mit der sich die eigenen Werte von denen der Normalfälle unterscheiden. Zur Berechnung von P werden die Einzelwerte x_n der Normalfälle und x_p der eigenen Fälle und deren Mittelwerte $\bar{x}_n$ und $\bar{x}_p$ herangezogen. Ergeben sich für die Mittelwert-Differenzen $\bar{x}_n - \bar{x}_p$ P-Werte von kleiner als 0,05 = 5% (Zufallswahrscheinlichkeit 5%), folgt daraus die Wahrscheinlichkeit für den Nichtzufall von 95%. Ist der Nichtzufall für die Mittelwert-differenzen $\bar{x}_n - \bar{x}_p$ erwiesen, so unterscheiden sich mit derselben Wahrscheinlichkeit auch die Mittelwerte $\bar{x}_n$ und $\bar{x}_p$ signifikant voneinander.

Die Wahrscheinlichkeit P kann man Tabellen (7) entnehmen, wenn der Freiheitsgrad $n = N_n + N_p - 2$ (N_n Anzahl der Normalfälle, N_p Anzahl der eigenen Fälle) und die Abweichung der Mittelwert-differenzen t bekannt sind. Die Abweichung t ist der Quotient $\bar{x}_n - \bar{x}_p$ dividiert durch s_D (Standardabweichung der Mittelwerte).

$$s_D = \sqrt{\frac{s_{x_n, x_p}^2}{N_n} + \frac{s_{x_n, x_p}^2}{N_p}}, \text{ wobei } s_{x_n, x_p}^2 \text{ die ge-}$$

meinsame Streuung der Einzelwerte bedeutet.

$$s_{x_n, x_p}^2 = \frac{S(x_n^2) - \bar{x}_n S(x_n) + S(x_p^2) - \bar{x}_p S(x_p)}{N_n + N_p - 2}$$

$S(x_n)$ Summe der Einzelwerte der Normalfälle

$S(x_p)$ Summe der Einzelwerte der eigenen Fälle

$S(x_n^2)$ Summe der Einzelwertquadrate der Normalfälle

$S(x_p^2)$ Summe der Einzelwertquadrate der eigenen Fälle.

Wegen des erheblichen Umfangs der Signifikanzberechnung werden in Tabelle 11 nur die Ergebnisse dargestellt.

Es bedeuten + P kleiner als 5%, - P größer als 5%.

		s_D	$\bar{x}_n - \bar{x}_p$	t	n	P
Original	PE	1,34	3,34	2,35	31	+
	bE	2,52	6,40	2,54	31	+
	pE	4,54	5,90	1,33	31	-
	oE	--	0,00	--	31	-
	rE	4,20	3,00	0,71	31	-
24 h	PE	0,77	1,83	2,38	31	+
	bE	3,41	7,40	2,17	31	+
	pE	8,65	17,00	1,97	31	-
	oE	5,25	13,00	2,48	31	+
	rE	8,65	13,00	1,50	31	-
48 h	PE	0,42	0,90	2,14	29	+
	bE	1,54	3,80	2,47	29	+
	pE	10,70	25,00	2,34	29	+
	oE	6,30	13,00	2,06	29	+
	rE	10,70	20,00	1,87	29	-
72 h	PE	--	0,00	--	31	-
	bE	1,64	3,46	2,14	31	+
	pE	12,30	39,00	3,17	31	+
	oE	4,85	9,80	2,02	31	-
	rE	11,10	31,00	2,79	31	+

Tab. 11. Werte der Signifikanzberechnung der Erythroblasten-Differentialverteilung von Tabelle 7, S. 12 (14 Fälle mit nephrogener Anämie und 19 Normalfälle von BOLL)

Bei der Berechnung der Mittelwert-Differenzen $\bar{x}_n - \bar{x}_p$ sind bei den Normalfällen einige von Tabelle 7, S. 12 abweichende Werte zu Grunde gelegt worden. Daraus resultieren in Tabelle 11, S. 19 für die Mittelwert-Differenzen gegenüber Tabelle 7 einige Unterschiede.

Aus Tabelle 11 ergeben sich von den Normalwerten signifikante Abweichungen:

Im Original bei den PE und bE,
nach 24 h bei den PE, bE und oE,
nach 48 h bei den PE, bE, pE und oE und
nach 72 h bei den bE, pE und rE.

V. D I S K U S S I O N

Der GE-Index ist bei Annahme einer ungestörten Granulopoese ein Maß für die Proliferation der Erythroblasten. Als Ausdruck einer Kompensation lassen die meisten Anämieformen in vivo deutlich die Zunahme des "roten" Knochenmarkanteiles erkennen (der GE-Index ist in vivo erniedrigt- vgl. Tab. 10, S. 17). Bei den eigenen Patienten mit durchschnittlichen Hämoglobin-Werten von 55% ist die Erythropoese viel weniger angeregt, denn der GE-Index in vivo gleicht fast dem bei normaler Erythropoese. Eine mangelhafte Kompensation zeigt sich im Original auch in einer nahezu normalen Differentialverteilung der Erythroblasten (Tab. 7, S. 12 und Abb. 1, S. 13). Bei den anderen Anämieformen sind in vivo dagegen die unreifen Vorstufen PE und bE deutlich vermehrt, die pE jedoch um mehr als 20% vermindert. Die scheinbar normalen Knochenmarkbefunde in vivo bei den eigenen Patienten stimmen mit den Erfahrungen früherer Untersucher überein, die trotz ausgeprägter Blutarmut bei Nierenkranken eine weitgehend unauffällige Erythropoese fanden (8).

Vom Normalen abweichende Werte ergeben sich im Originalausstrich bei der nephrogenen Anämie für die MI der einzelnen Erythroblasten-Reifungsstufen (Tab. 9, S. 16). Diese sind für die PE und bE um etwa 50%, für die pE um etwa 30% erniedrigt. Verminderte MI der PE und bE in vivo zeigt auch die Eisenmangel-Anämie, deren MI der pE und oE dagegen erhöht sind. Besonders hohe MI aller Erythroblasten-Reifungsstufen in vivo findet man bei der hämolytischen Anämie (2). Die Verminderung der Erythroblasten-MI bei der nephrogenen Anämie in vivo ist Ausdruck einer mangelhaften Regeneration der genannten Reifungsstufen.

Die großen Retikulumzellen sind in vivo um das Vierfache der Norm vermehrt. METZGER (1948) (zit. nach HEILMEYER (8)) fand im urämisches Koma zuweilen Retikulumzellwucherung. Bei der nephrogenen Anämie sollen sich die großen Retikulumzellen nicht in Proerythroblasten umwandeln können und nehmen dadurch an Zahl zu (9). Ob die Vermehrung der großen Retikulumzellen bei unseren Patienten in diesem Sinne gedeutet werden kann, ist zu diskutieren.

Die Granulopoese ist bei der nephrogenen Anämie in vivo anscheinend ungestört. Die granulopoetischen Reifungsklassen sind gegenüber der normalen Granulopoese vermehrt ausgereift.

Unter Kulturbedingungen sinkt der GE-Index bei den eigenen Patienten ab. Nach 24 h Kulturzeit liegt er zwischen dem GE-Index der Eisenmangel- und hämolytischen Anämie. Nach 48 h steigt er auf normale Werte an, bleibt nach 72 h jedoch um 30% niedriger als der normale GE-Index nach 72 h. Die Erniedrigung des GE-Indexes bedeutet bei konstanter Granulopoese die Zunahme der Erythroblastenanzahl. Die "rote" Reifungskurve (Abb. 1, S. 13) zeigt wie bei den übrigen Anämieformen (2) in vitro gegenüber der normalen "roten" Reifungskurve eine deutliche Linksverschiebung (vermehrte Ausreifung der Erythroblasten). Die Reifungskurve der Erythroblasten der eigenen Patienten ähnelt in vitro den Reifungskurven der Eisenmangel- und hämolytischen Anämie. Wie unten näher ausgeführt wird, korrespondiert dieses Verhalten mit hämatologischen Ergebnissen anderer Autoren (7a, 8, 14, 16). In vitro ist das Ansteigen der MI aller roten Reifungsklassen zu beobachten. Die Zahl der großen Retikulumzellen nimmt in vitro deutlich ab.

Diese Befunde deuten auf bessere Wachstumsbedingungen für die Erythroblasten in den Kulturen hin.

Für die isolierte Hemmung der Erythropoese bei den eigenen Patienten in vivo ist wahrscheinlich der erniedrigte Erythropoitin-Titer verantwortlich. Diese Erniedrigung wird regelmäßig bei anämischen Nierenkranken festgestellt (9, 12a, 14). Im Gegensatz dazu ist bei Patienten mit anderen Anämieformen das Erythropoitin vermehrt (9). Die beobachtete Anregung der Erythropoese in vitro bei der nephrogenen Anämie hängt vermutlich also direkt oder indirekt mit dem Erythropoitin zusammen. Da den Kulturen kein renales Erythropoitin zugesetzt wird, ist zu diskutieren, wie es zu der Anregung der Erythropoese in vitro kommt.

1. Das zugesetzte Corhormon^R, ein Extrakt aus embryonalen Schweineherzen, könnte die Erythropoese anregen und das mangelnde Erythropoitin ersetzen.

2. Das Corhormon^R besitzt keine erythropoetische Aktivität, und die Erythropoese könnte in vitro auch ohne Erythropoitin angeregt sein. Das Erythropoitin wäre in diesem Falle nur ein Faktor unter anderen in einem Regelkreis, durch den das rote Knochenmark in vivo sowohl stimuliert als auch gehemmt wird. Einen Erythropoitin-Inhibitor beschrieben FISHER et al. (1968) (6). Diesen fanden sie im Nierenhomogenat von normalen und nierenkranken Patienten. Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz war der Inhibitor gegenüber den Normalpersonen signifikant vermehrt. PARREIRA et al. (1963) und ESSERS et al. (1970) wiesen nach, daß das Serum von Nierenkranken die Proliferationsaktivität von normalem Knochenmark verminderte (12a) und die Wirkung von Erythropoitin hemmte (4). Ob die Erythropoitin-Hemmkörper die Erythropoese direkt hemmen oder das Erythropoitin, ist noch nicht bewiesen worden (17). Durch den Zerfall der beschriebenen Inhibitoren auf Grund der relativ kurzen Halbwertszeiten der Fermentaktivitäten herrschen in vitro anscheinend schon nach 24 h Kulturzeit andere Bedingungen als in vivo. Deshalb ist bei Patienten mit nephrogener Anämie auch ohne Erythropoitin eine vermehrte Erythroblasten-Proliferation in vitro denkbar.

ALPEN und CRANFORD (1959), ERSLEV sowie LAJTHA und CLIVIER (1960) (zit. nach HEILMEYER (9)) nehmen an, daß das Erythropoitin an den multipotenten Stammzellen, also den großen Retikulumzellen, angreift. Bei Erythropoitin-Mangel wäre also die zahlenmäßige Zunahme dieser Zellgruppe zu erwarten, da sich die großen Retikulumzellen

nicht in Proerythroblasten umwandeln können. Die gegenüber der Norm vierfache Anzahl der großen Retikulumzellen in vivo bei den eigenen Patienten wurde oben erwähnt (S. 21). Die zahlenmäßige Abnahme dieser Zellen bei gleichzeitiger Zunahme der Erythroblasten (Erniedrigung der GE-Indizes unter Normalwerte) bereits nach 24 h Kulturzeit spräche für das Angreifen des Erythropoetins an den großen Retikulumzellen, wenn in unseren Kulturen ein höherer Erythropoitin-Titer nachgewiesen werden sollte als in vivo. Bei gesunden Patienten (mit normalem Erythropoitin-Titer) bleibt die Anzahl der großen Retikulumzellen in vivo und in vitro konstant (13).

Für eine direkte Erythropoitin-Wirkung an den Erythroblasten gemäß WERNER (1958) (zit. nach HEILMEYER) und KLEIN et al. (1969) sprechen bei unseren Nierenkranken die stark erniedrigten MI der PE, bE und pE in vivo (bei Erythropoitin-Mangel) und deren ansteigenden MI in vitro bei denselben Markproben. Bei Erythropoitin-Mangel, der bei Mäusen durch doppelseitige Nephrektomie erzeugt wurde, stellten KLEIN et al. (1969) die signifikante Erniedrigung aller Erythroblasten-MI fest. Außerdem war die mittlere Generationszeit der Erythroblasten um etwas mehr als das Doppelte gegenüber den Kontrollen verlängert (11).

Die eigenen Ergebnisse lassen vermuten, daß die Erythroblasten-Regeneration (gemessen mit dem MI der Reifungsklassen) in vitro echt zunimmt. Eine nur relative Zunahme der Erythroblasten-Regeneration könnte nämlich durch den Zerfall von Erythroblasten in den Kulturen vorgetäuscht werden. Obwohl diese Zellen im Original infolge Erythropoitin-Mangels bereits nekrobiotisch wären (10), würden sie als teilungsfähig mitgezählt werden. Mit der PAPPENHEIM-Färbung können nekrobiotische Zellen von lebenden nicht sicher unterschieden werden. Bei etwa konstanter Anzahl der Mitosen und Abnahme der teilungsfähigen Erythroblasten in vitro würde sich hier der MI rechnerisch erhöhen. Der Zerfall von roten Knochenmarkzellen läßt das Ansteigen des GE-Indexes erwarten. Im Gegensatz dazu nimmt der GE-Index bei unseren Patienten in vitro ab und liegt sogar unter dem Wert der normalen Erythropoese (nach 24 und 72 h Kulturzeit).

Doch erst die Zählung von Retikulozyten in den Kulturen würde diese Frage genauer beantworten können.

Wie die eigenen Ergebnisse indirekt zeigen, wirkt das Erythropoitin im Knochenmark nur auf die Erythropoese. Bei Einwirkung auch auf die Granulopoese müßte sich bei unseren Patienten die Proliferation der weißen Vorstufen in vitro entscheidend verändern. Demgegenüber sind außer einer leicht vermehrten Ausreifung keine qualitativen Unterschiede zur normalen Granulopoese festzustellen. HADNAGY et al. (1965) wiesen auch an anderen Geweben die ungehinderte Regeneration bei Erythropoitin-Mangel nach (7b).

In zahlreichen Arbeiten werden bei nephrogener Anämie vermehrter Blutkörperchenzerfall, Blutverlust durch die ableitenden Harnwege, Eisenmangel und mangelhafter Eiseneinbau beschrieben (5, 7a, 8, 14, 16). Beim Vergleich der nephrogenen Anämie mit den anderen Anämieformen (2) finden sich in vitro z.T. auffällige Parallelen. Einige Werte der eigenen Fälle erscheinen wie Mittelwerte der anderen Anämien (vgl. Tab. 7, 9 und 10). In vitro ähneln sich die "roten" Reifungskurven der nephrogenen, der hämolytischen und der Eisenmangel-Anämie. Die oben beschriebenen hämatologischen Befunde anderer Autoren und die teilweise Übereinstimmung mit den anderen Anämieformen (2) in vitro bei der nephrogenen Anämie lassen sich somit gut in Einklang bringen. Es ist zu vermuten, daß bei Nierenkranken auch ohne Erythropoitin-Mangel eine Anämie auftreten würde. Diese wäre eine Mischform der genannten Anämiearten. Da bei der nephrogenen Anämie infolge Nierenparenchymschadens der feed-back-Mechanismus unterbrochen ist, bleibt die Kompensation der Anämie aus. Durch den Erythropoitin-Mangel kommt es eher noch zur Hemmung der Erythropoese. Die vermehrte Proliferation der Erythroblasten in vitro bei unseren Nierenkranken deutet darauf hin, daß die vermißte Kompensation der "Mischanämie" offenbar erst unter Kulturbedingungen erfolgt. Trotz der festgestellten Übereinstimmungen mit den anderen Anämieformen gehorcht die Erythropoese bei der nephrogenen Anämie eigenen Gesetzen, wofür Erythropoitin bzw. Erythropoitin-Mangel verantwortlich sein dürften.

Seit langem wurden die hohen Serumspiegel der harnpflichtigen Substanzen infolge Niereninsuffizienz für die Entstehung der nephrogenen Anämie verantwortlich gemacht (5, 8). Inzwischen fand man bei Patienten und bei Versuchstieren auch bei hohen Harnstoffwerten eine ungestörte Erythropoese, wenn gesundes Nierengewebe vorhanden war (3, 6, 7b, 10, 11, 12, 15). Bei den eigenen Pati-

enten ließ sich keine Abhängigkeit zwischen den Harnstoffwerten im Serum und der Erythroblasten-Froliferation in vivo und in vitro erkennen. Bei keinem Patienten wiesen alle Werte zugleich auf eine verminderte Erythropoese hin. Da das Serum der Patienten in den Kulturen etwa im Verhältnis 1:1 verdünnt wird, verringert sich der durchschnittliche Harnstoffgehalt auf etwa 43 mg% in vitro (Normalwerte: 20-45 mg%). Deshalb läßt sich durch unseren Versuchsansatz die hemmende Wirkung der harnpflichtigen Substanzen auf die Erythropoese nicht sicher ausschließen.

Somit läßt sich für die nephrogene Anämie aussagen, daß in vivo die Erythroblasten-Regeneration vermindert, die Differentialverteilung der Erythroblasten und der GE-Index normal und die Anzahl der großen Retikulumzellen vermehrt sind; in der Koagulumkultur mit HANK's Lösung ist die Proliferation (Regeneration und Reifung) der Erythroblasten gegenüber der Norm verstärkt und die Anzahl der großen Retikulumzellen etwa normal; die Reifungsklassen der Granulopoese sind im Original und in den Kulturen im Vergleich zur normalen Granulopoese vermehrt ausgereift.

VI. Z U S A M M E N F A S S U N G

14 Knochenmark-Punktate von 10 anämischen Nierenkranken wurden auf dem Koagulum kultiviert und nach 24, 48 und 72 h Kulturzeit wie das Original nach PAPPENHEIM gefärbt und ausgezählt. Dabei zeigte sich in vivo die Vermehrung der großen Retikulumzellen, eine weitgehend normale Differentialverteilung der Erythroblasten bei fast normalem GE-Index und die starke Erniedrigung der MI der PE, bE und pE. Unter Kulturbedingungen war die Gesamtzunahme der Erythropoese (gemessen mit dem GE-Index), der Anstieg der Erythroblasten-Regeneration (gemessen mit den MI der roten Reifungsklassen) und die vermehrte Ausreifung der Erythroblasten zu beobachten; die Zahl der großen Retikulumzellen in vitro lag im Normbereich; die Granulopoese zeigte im Original und in den Kulturen keine unterschiedliche Froliferation.

Diese Ergebnisse sprechen für die Hemmung der Erythropoese und die mangelhafte Umwandlung der großen Retikulumzellen in Proerythro-

blasten in vivo, wofür vor allem der Erythropoitin-Mangel verantwortlich sein dürfte. Da die Störung in vitro beseitigt ist, die Proliferation der Erythroblasten sogar angeregt wird, muß diskutiert werden, ob die harnpflichtigen Substanzen die Proliferation bremsen oder ob das als Wuchsstoff verwendete Cortihormon^R erythropoetische Aktivität entfaltet.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF
Nr. 031.- 64-1 BIAD
Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft
unterstützt.

VII. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1 BOLL, I.: Granulopoese unter normalen und pathologischen Bedingungen.
Monographie Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1966)
- 2 BOLL, I., MERSCH, G.: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro.
Blut XVII, 193 (1968)
- 3 ERSLEV, A.E., MCKENNA, P.J., CAPELLI, J.P., HAMBURGER, R.J., COHN, H.E., CLARK, J.E.: Rate of red cell production in two nephrectomized patients.
Arch. intern. Med. 122, 230 (1968)
- 3a ESCHBACH, J.W., ADAMSON, J.W., COCK, J.D.: Disorders of red blood cell production on uremia.
Arch. intern. Med. 126, 812 (1970)
- 4 ESSERS, U., BRASS, H., SPICHER, K.: Die aplastische Anämie bei Niereninsuffizienz - eine inhibitorische Wirkung des Urämieserums auf Erythropoitin?
Klin. Wschr. 48, 92 (1970)
- 5 FIESCHI, A.: Semiologie des Knochenmarks.
Erg. inn. Med. 59, 382 (1940)
- 6 FISHER, J.W., HATCH, F.E., ROH, B.L., ALLEN, R.C., KELLEY, J.W.: Erythropoietin inhibitor in kidney extracts and from anemic uremic human subjects.
Blood 31, 440 (1968)
- 7 FISHER, R.A., YATES, F.: Statistical Tables for Agricultural, Biological and Medical Research.
Verlag Oliver und Boyd Edinburgh (1953)
- 7a FRIEDERICI, L., FISCHER, J.: Die Erythropoese bei Nieren-erkrankungen unter besonderer Berücksichtigung der Erythropoitin-Aktivität des Blutes.
Fol. haemat. N. F. 8, 398 (1963)

- 7b HADNAGY, C., GYERGYAY, F., ANTAL, Z.: Beitrag zur Anämie der Nierenkranken. Mitosehäufigkeit in Dünndarm- und Zungenepithel nach Nephrektomie.
Klin. Wschr. 43, 241 (1965)
- 8 HANDBUCH DER GESAMTEN HÄMATOLOGIE, Band V, 3. Teil, 1. Halbband, S. 398.
Verlag Urban und Schwarzenberg München-Berlin (1964)
- 9 HANDBUCH DER INNEREN MEDIZIN, Band II, 1. Teil, 5. Aufl. S. 563, 565, 566.
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1968)
- 10 KLEIN, H.O., DOBBERT, M., HELIER, A.: Experimenteller Beitrag zur Beziehung zwischen Niere und Erythropoese: PAS-positive Erythroblasten im Knochenmark doppelseitig nephrektomierter Ratten.
Klin. Wschr. 45, 644 (1967)
- 11 KLEIN, H.O., LENNARTZ, K.J., EDER, M., GROSS, R.: Autoradiographische und hämatologische Untersuchung zur Zellkinetik der Erythroblasten im Kurzzeitversuch nach doppelseitiger Nephrektomie und Ureterligatur bei Mäusen.
Blut XIX, 449 (1969)
- 11a KLEIN, H.O., LENNARTZ, K.J., HÜBNER, W., SIEBERTH, H.G.: Cell kinetics of the erythrocytic system. In vitro study in patients with acute and chronic renal failure, after bilateral nephrectomy and kidney transplantation.
13. Int. Hämat. Kgr. München (1970), Abstr. Vol. S. 219
- 12 NAETS, J.P.: Erythropoiesis in uremic and anephric man.
13. Tagg. Dt. Ges. Hämat. Ulm (1968)
- 12a PARREIRA, F., NUNES, M.M.: Resultados da cultura "in vitro" da medula ossea em varios tipos de anemia e na policitemia.
9. Europ. Hämat. Kgr. Lissabon (1963), S. 253
- 13 SALCHOW, P.: Die Wirkung von Phythämagglutinin auf Knochenmark-Kulturen.
Diss. Berlin (1967)

- 14 STEWART, J.H.: Hemolytic anemia in acute and chronic renal failure.
Quart. J. Med. 36/141, 85 (1967)
- 15 SWALES, J.D., EVANS, D.B.: Erythremia in renal transplantation.
Brit. med. J. 2, 80 (1960)
- 16 WALLER, H.D.: Störungen in der Hämostase und Anämie bei akutem Nierenversagen.
Dtsch. Ärztebl. 17, 980 (1968)
- 17 WOLTERS, H.G.: Spezifische humorale Regulation der Erythropoese.
Habil. Schrift Berlin (1970)

Frau Prof. Dr. med. I. Boll, die mich mit der Differenzierung von Knochenmarkausstrichen vertraut gemacht hat, bin ich für die Stellung des Themas, die vielen Anregungen und freundlichen Hinweise sowie die kritische Durchsicht der Arbeit zu sehr großem Dank verpflichtet.

Auch Frau E. Ruhnow und den medizinisch-technischen Assistentinnen des hämatologischen Labors im Städt. Krankenhaus Berlin-Neukölln sei an dieser Stelle gedankt.

Lebenslauf

Am 22. Januar 1944 wurde ich, Günter Wilke, als Sohn des Studienrates Gerhard Wilke und seiner Ehefrau Ruth, geb. Siméon, in Quedlinburg geboren. Hier besuchte ich die Grundschule und von 1958 bis 1961 die Oberschule. Nach unserer Flucht im Februar 1961 nach West-Berlin setzte ich den Schulbesuch am Schiller-Gymnasium zu Berlin-Charlottenburg bis zum Abitur im September 1963 fort. Nach drei Semestern Physik an der Freien Universität Berlin begann ich hier im Sommersemester 1965 mit dem Medizinstudium. Im gleichen Semester bestand ich das Vorphysikum und im Wintersemester 1966 das Physikum. Das Wintersemester 1967 studierte ich in Innsbruck. Die folgenden Semester bis zum Staatsexamen, das ich im März 1971 bestand, studierte ich wieder an der Freien Universität Berlin. Von Mai 1971 an arbeitete ich als Medizinal-Assistent an der Chirurgischen Klinik des Städt. Krankenhauses Hildesheim und vom 1. September 1971 bis zum 31. 12. 1971 an der Medizinischen Klinik des St. Bernhard-Krankenhauses in Hildesheim. Zur Zeit beende ich meine Medizinal-Assistenten-Zeit in der Praxis des HNO-Facharztes Dr. Dr. med. Beyer in Hildesheim. Ich habe den Wunsch, Facharzt für Hals-Nasen-Ohren-Erkrankungen zu werden.

